

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和6年1月22日(2024.1.22)

【国際公開番号】WO2021/146222

【公表番号】特表2023-510872(P2023-510872A)

【公表日】令和5年3月15日(2023.3.15)

【年通号数】公開公報(特許)2023-049

【出願番号】特願2022-542899(P2022-542899)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/10(2006.01)

C 1 2 N 5/078(2010.01)

C 1 2 N 15/09(2006.01)

C 1 2 N 15/11(2006.01)

C 1 2 N 5/077(2010.01)

C 1 2 N 5/0793(2010.01)

C 1 2 N 5/071(2010.01)

C 1 2 N 15/12(2006.01)

A 6 1 P 27/02(2006.01)

A 6 1 P 9/00(2006.01)

A 6 1 P 17/02(2006.01)

A 6 1 P 37/06(2006.01)

A 6 1 K 35/12(2015.01)

A 6 1 K 35/545(2015.01)

【F I】

C 1 2 N 5/10 Z N A

C 1 2 N 5/078

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 N 15/11 Z

C 1 2 N 5/077

C 1 2 N 5/0793

C 1 2 N 5/071

C 1 2 N 15/12

A 6 1 P 27/02

A 6 1 P 9/00

A 6 1 P 17/02

A 6 1 P 37/06

A 6 1 K 35/12

A 6 1 K 35/545

【手続補正書】

【提出日】令和6年1月12日(2024.1.12)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

血液型抗原遺伝子の発現が部分的または完全に不活性化され、かつ、1つ以上の修飾を

10

20

30

40

50

含む、操作細胞であって、前記 1 つ以上の修飾が、

(a) (i) 1 つ以上の主要組織適合遺伝子クラス I (M H C - I) 分子及び / もしくは 1 つ以上の M H C - I 分子の発現を制御する 1 つ以上の分子 ; 及び / もしくは

(i i) 1 つ以上の M H C クラス I I (M H C - I I) 分子及び / もしくは 1 つ以上の M H C - I I 分子の発現を制御する 1 つ以上の分子

の 1 つ以上の対立遺伝子を不活性化するか、破壊し、ならびに / または

(b) 1 つ以上の寛容原性因子の発現を増加させ、

前記 (b) の増加させた発現が、修飾を含まない単離細胞と比較される、操作細胞。

【請求項 2】

10

前記血液型抗原遺伝子が、A B O 遺伝子であり、前記 A B O 遺伝子が、

(a) 前記 A B O 遺伝子のエクソン 6 2 5 8 d e l G 変異の挿入、

(b) 前記 A B O 遺伝子のエクソン 1、2、6、7、もしくは 8 内での挿入、または

(c) 前記 A B O 遺伝子のエクソン 1、2、6、7、もしくは 8 内での欠失

によって、部分的または完全に不活性化される、請求項 1 に記載の操作細胞。

【請求項 3】

前記血液型抗原遺伝子が、エクソン 2 または 4 内での挿入または欠失によって、部分的または完全に不活性化される F U T 1 遺伝子である、請求項 1 に記載の操作細胞。

【請求項 4】

前記血液型抗原遺伝子が、R H D 遺伝子であり、前記 A B O 遺伝子が、

20

(a) 前記 R H D 遺伝子の 5 ' 非翻訳領域 (U T R) の挿入もしくは欠失、または

(b) 前記 R H D 遺伝子のエクソン 1、2、3、4、5、6、7、もしくは 8 内での挿入

もしくは欠失

によって、部分的または完全に不活性化される、請求項 1 に記載の操作細胞。

【請求項 5】

前記細胞が、R h 陰性細胞である、請求項 1 に記載の操作細胞。

【請求項 6】

前記細胞が、O 型またはボンベイ表現型を有する、請求項 1 に記載の操作細胞。

【請求項 7】

前記細胞が、前記 A B O 遺伝子の部分的または完全な不活性化がホモ接合である、請求項 1 に記載の操作細胞。 30

【請求項 8】

前記細胞が、ヒト細胞である、請求項 1 に記載の操作細胞。

【請求項 9】

前記細胞が、人工多能性幹細胞、胚性幹細胞、成体幹細胞、及び分化細胞からなる群から選択される、請求項 1 に記載の操作細胞。

【請求項 10】

部分的または完全に不活性化される前記 A B O 遺伝子が、C R I S P R - C a s 遺伝子編集システムを使用して生成され、

前記 C R I S P R - C a s 遺伝子編集システムが、前記 A B O 遺伝子を標的とするガイド R N A を含み、 40

前記ガイド R N A が、表 1、表 A、表 B、または表 C から選択される配列を標的とする、

請求項 2 に記載の操作細胞。

【請求項 11】

前記ガイド R N A が、配列番号 1 または配列番号 2 を含む配列を標的とする、請求項 10 に記載の操作細胞。

【請求項 12】

前記ガイド R N A が、配列番号 3、4、5、15、または 16 を含む配列を標的とする、請求項 10 に記載の操作細胞。 50

【請求項 13】

前記ガイドRNAが、配列番号17または配列番号18のヌクレオチド配列を含む、請求項10に記載の操作細胞。

【請求項 14】

前記ABO遺伝子が、前記ABO遺伝子のエクソン1のACACCT；エクソン2のAGTGGC；またはエクソン8のCAAGCGC、GGCGCA、TGGGCG、ACCACG、GCCGCA、CCACGT、TGCCGT、TACTCG、ACTCGG、GAGCGC、GCCTGG、GTCCTT、TCACGC、TGGACG、TGGTCG、GCTGGC、CACGGC、AGGTGA、もしくはGCATCG内での挿入または欠失によって部分的あるいは完全に不活性化される、請求項2に記載の操作細胞。

10

【請求項 15】

前記ABO遺伝子の前記エクソン6 258delG変異が、CRISPR-Cas遺伝子編集システムを使用して生成され、

前記CRISPR-Cas遺伝子編集システムが、

配列番号3、4、5、または18のいずれか1つを標的とする前記ABO遺伝子を標的とするガイドRNAと、

前記258delG変異をコードする配列、PAM配列、スパーサー領域、及び2つの同源性アームを含む同源性指向修復(HDR)ドナー鋳型と、を含み、

各々の同源性アームが、前記ABO遺伝子と約10～約1000ヌクレオチドの相同配列を含む、

20

請求項2に記載の操作細胞。

【請求項 16】

前記ABO遺伝子の前記エクソン6 258delG変異が、CRISPR-Cas遺伝子編集システムを使用して生成され、

前記CRISPR-Cas遺伝子編集システムが、

配列番号3、4、5、または18のいずれか1つを標的とする前記ABO遺伝子を標的とするガイドRNAと、

配列番号6、7、8、または19のいずれか1つの配列を含むHDRドナー鋳型と、を含む、

請求項2に記載の操作細胞。

30

【請求項 17】

前記ABO遺伝子のエクソン6 258delG変異の挿入が、前記細胞が、血液型O細胞であるようなホモ接合変異である、請求項2に記載の操作細胞。

【請求項 18】

前記1つ以上のMHC-I分子の発現を制御する前記1つ以上の分子が、前記1つ以上のMHC-I分子の細胞表面タンパク質の発現を制御する、請求項1に記載の操作細胞。

【請求項 19】

前記1つ以上のMHC-II分子の発現を制御する前記1つ以上の分子が、前記1つ以上のMHC-II分子の細胞表面タンパク質の発現を制御する、請求項1に記載の操作細胞。

40

【請求項 20】

前記1つ以上の修飾が、

1つ以上のMHC-I分子；

1つ以上のMHC-II分子；または

1つ以上のMHC-I分子及び1つ以上のMHC-II分子

の発現を減少させる、請求項1に記載の操作細胞。

【請求項 21】

前記1つ以上の修飾が、B2M、TAP I、NLRC5、CIITA、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DP、HLA-DQ、HLA-DR、HLA-DM、HLA-DO、RFX5、RFXANK、RFXAP、NFY-A、NFY-B、NFY

50

- C、I R F I、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される1つ以上の分子の発現を減少させる、請求項1に記載の操作細胞。

【請求項22】

前記1つ以上の修飾が、前記1つ以上のM H C - I分子の細胞表面タンパク質の発現を減少させる、請求項1に記載の操作細胞。

【請求項23】

前記1つ以上の修飾が、前記1つ以上のM H C - I分子の表面輸送を減少させる、請求項1に記載の操作細胞。

【請求項24】

前記1つ以上の修飾が、B 2 Mの発現を減少させる、請求項1に記載の操作細胞。

10

【請求項25】

前記1つ以上の修飾が、H L A - A、H L A - B、及び/またはH L A - Cの発現を減少させる、請求項1に記載の操作細胞。

【請求項26】

前記1つ以上の修飾が、前記1つ以上のM H C - I I分子の細胞表面タンパク質の発現を減少させる、請求項1に記載の操作細胞。

【請求項27】

前記1つ以上の修飾が、前記1つ以上のM H C - I I分子の表面輸送を減少させる、請求項1に記載の操作細胞。

【請求項28】

前記1つ以上の修飾が、C I I T Aの発現を減少させる、請求項1に記載の操作細胞。

20

【請求項29】

前記1つ以上の修飾が、H L A - D M、H L A - D O、H L A - D P、H L A - D Q、及び/またはH L A - D Rの発現を減少させる、請求項1に記載の操作細胞。

【請求項30】

前記1つ以上の寛容原性因子が、P D - L 1、H L A - E、H L A - G、C D 4 7、C D 2 0 0、F A S L G、C L C 2 1、M F G E 8、S E R P I N B 9、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される1つ以上の寛容原性因子を含む、請求項1に記載の操作細胞。

【請求項31】

請求項1に記載の操作細胞を含む医薬組成物。

30

【請求項32】

治療を必要とする患者を治療する方法であって、請求項1に記載の操作細胞を患者に投与することを含む方法における使用のための、請求項31に記載の医薬組成物。

【請求項33】

操作細胞を生成する方法であって、

(a) 単離細胞を取得することと、

(b) C R I S P R - C a sヌクレアーゼ、及び血液型抗原遺伝子を標的とするガイドRNAを前記細胞に導入することと、

(c) 血液型抗原遺伝子が、部分的または完全に不活性化される、操作細胞を選択することと、を含み、

40

前記操作細胞が、1つ以上の修飾を含み、前記1つ以上の修飾が、

(i) (1) 1つ以上の主要組織適合遺伝子クラスI (M H C - I) 分子及び/もしくは1つ以上のM H C - I分子の発現を制御する1つ以上の分子；及び/もしくは

(2) 1つ以上のM H CクラスII (M H C - I I) 分子及び/もしくは1つ以上のM H C - I I分子の発現を制御する1つ以上の分子

の1つ以上の対立遺伝子を不活性化するか、破壊し、ならびに/または

(i i) 1つ以上の寛容原性因子の発現を増加させ、

前記(i i)の増加させた発現が、修飾を含まない単離細胞と比較される、方法。

50